

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2001-512461
(P2001-512461A)

(43) 公表日 平成13年8月21日 (2001.8.21)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テマコト* (参考)

A 6 1 K 9/50
C 0 8 J 3/16A 6 1 K 9/50
C 0 8 J 3/16

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 34 頁)

(21) 出願番号 特願平10-535968
 (86) (22) 出願日 平成10年2月11日 (1998.2.11)
 (85) 翻訳文提出日 平成11年8月11日 (1999.8.11)
 (86) 国際出願番号 PCT/US98/02874
 (87) 国際公開番号 WO98/35654
 (87) 国際公開日 平成10年8月20日 (1998.8.20)
 (31) 優先権主張番号 08/800, 924
 (32) 優先日 平成9年2月13日 (1997.2.13)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L U, MC, NL, PT, SE), CA, JP

(71) 出願人 オークウッド ラボラトリーズ エル. エル. シィ.
 アメリカ合衆国 44146 オハイオ, オークウッド, ファースト プレイス 7670
 (72) 発明者 タノー, バガバシカヌン チサンバラ
 アメリカ合衆国 44147 オハイオ, プロードビュー ハイツ, ストーニイ ラントレイル 1505
 (72) 発明者 マータ, ジェイムス
 アメリカ合衆国 44236 オハイオ, ハドソン, ディビジョン ストリート 89
 (74) 代理人 弁理士 佐田 守雄

(54) 【発明の名称】 連続ミクロスフェア製法

(57) 【要約】

発泡の問題を発生させない、小さな粒度が獲得できるミクロスフェア製造のための連続製法。分散相に含まれる薬剤及びポリマーは連続相と共に高い強度の乳化容器に連続的に注入された。分散相のエマルジョンは発泡に対する処置を必要とせずに、分散相ポリマーの急速な凝固に効果的な高い強度での混合により連続相で形成される。

【特許請求の範囲】

1. 次の工程を含む、ポリマー物質を含む活性剤の生産を要望される平均粒度及び活性剤充填量を持つ第1の集団から、本質的に同じ平均粒度及び活性剤充填量を持つ第2の集団に規模拡大する方法。

a) 連続相及び前記活性剤及びポリマーを含んだ分散相を反応容器への注入、及び前記容器における前記連続相中での前記分散相のエマルジョンの形成のための前記相の混合。

b) 前記反応容器から溶媒除去容器へのエマルジョンの連続的輸送、及びそこにおける前記エマルジョンからの溶媒の除去。

c) 前記要望平均粒度及び活性剤充填量を持つ前記第1集団の獲得。；及び、その後の

d) ポリマー物質を含む活性剤の要望される第2のより大きな集団を生産するための工程(a)及び(b)を連続的に実行するために適する持続時間の選択、及び前記第2集団を獲得するために十分な持続時間での工程(a)及び(b)の連続的实施。

2. 第1の集団の要望の平均粒度及び活性剤充填量が工程(a)及び(b)の実施による獲得され、並びに要望の平均粒度及び活性剤充填量を獲得するための反応容器への連続相の供給速度、反応容器への分散相の供給速度、及び連続及び分散相の混合される強度から選択された少

なくとも1つのパラメーターを調節する請求項1の方法。

3. 第2集団を生産するために、分散相が反応容器に流速が約4ml/min～約400ml/minで注入され、及び連続相が反応容器に流速が約1000ml/min～約20,000ml/minで注入される請求項1の方法。

4. 第2集団を生産するために、連続相及び分散相が5：1～500：1の比率で反応器に注入される請求項1の方法。

5. 第2集団を生産するために、連続相及び分散相が40：1～200：1の比率で反応器に注入される請求項1の方法。

6. 第2集団を生産するためにエマルジョンを形成する工程が約10秒以内にポリ

マーの凝固を引き起こすように適応させた強さでの前記分散相及び連続相の強力な混合を含む請求項1の方法。

7. 第2集団を生産するためのエマルジョンを形成する工程が約5秒以内にポリマーの凝固を引き起こすように適応させた強さでの分散相及び連続相の強力な混合を含む請求項1の方法。

8. 反応容器がインペラーを含み、及び第2集団を生産するためのエマルジョンを形成する工程が約10秒以内にポリマーの凝固を引き起こすように適応させた強さでのインペラーの分散相及び連続相の強力な混合を含む請求項1の方法。

9. 約5秒以内に凝固が発生する請求項8の方法。

10. 反応器での分散相の滞留時間が約5秒以下である請求項8の方法。

11. インペラーを毎分約6,000～10,000回転で運転することを含む請求項8の方法。

12. 次の工程を含む、ポリマー物質を含む活性剤を生産する方法。

a) 活性剤及びポリマー物質を含む分散相の形成。

b) 将来エマルジョンを形成する前記分散相への連続相の供給。

c) 反応容器へ分散相供給速度での分散相の注入、及び前記反応容器への連続相供給速度での連続相の注入、エマルジョン形成のための手段を含む前記反応容器、並びに前記連続相での前記分散相のエマルジョンの形成。

d) 前記エマルジョンの前記反応容器から溶媒除去のための溶媒除去容器への連続的輸送。

13. 分散相が反応容器に流速が約4ml/min～約400ml/minで供給され、及び連続相が反応容器に流速が約1000ml/min～約20,000ml/minで注入される請求項12の方法。

14. 分散相が親水性ペプチド活性剤及びラクチドグリコリドのコポリマーを含み、並びに分散及び連続相を平均粒度が約5 μ m～約40 μ mに、及び少なくとも約9%の活性剤充填量の供給に効果的な方法での分散及び供給相の乳

化を含む請求項12の方法。

15. 分散相が親水性ペプチド活性剤及びラグチドグリコリドのコポリマーを含み、並びに分散及び連続相を平均粒度が約 $5\mu\text{m}$ ～約 $40\mu\text{m}$ に、及び少なくとも約15%の活性剤充填量の供給に効果的な方法での分散及び供給相の乳化を含む請求項12の方法。
16. 連続相及び分散相が5：1～500：1の比率で反応器に注入される請求項12の方法。
17. 連続相及び分散相が40：1～200：1の比率で反応器に注入される請求項12の方法。
18. エマルジョンを形成手段がインペラーを含む請求項12の方法。
19. エマルジョンを形成手段がインペラーを含み、混合がインペラーを毎分約5,000回転以上で運転することにより混合が行われる請求項12の方法。
20. エマルジョンを形成手段インペラーを含み、インペラーがインペラーから軸方向に延長した円柱帯の直径を定義する直径を持つ所であり、分散相が軸方向の延長柱帯に注入される請求項12の方法。
21. エマルジョンを形成手段が約10秒以内に分散相ポリマーの凝固を引き起こすのに効果的な混合体を形成し、及び分散相が混合帯の状態で反応容器に注入される請求項12の方法。
22. 分散相が均質溶液である請求項12の方法。
23. 分散相がエマルジョンである請求項12の方法。
24. 反応器での分散相の平均滞留時間が約5秒未満である請求項12の方法。
25. 分散相ポリマーの凝固を約10秒以内に発生させるように適応したやり方の分散及び連続相の乳化を含む請求項12の方法。
26. 分散相ポリマーの凝固を約5秒以内に発生させるように適応したやり方の分散及び連続相の乳化を含む請求項12の方法。
27. エマルジョン形成の手段がインペラーを含み、及びエマルジョン形成の工程がインペラーを毎分約6,000回転以上から約10,000回転までで運転される請求項12の方法。
28. 製造工程がミクロスフェアの要望の集団を形成するのに十分な期間実施さ

れ、その工程の初期に生産されたマイクロフェアが工程の終期に生産されたマイクロフェアと実質的に同一な粒度及び活性剤充填量を持つ請求項12の方法。

- 29. 請求項12の方法で作成されたマイクロフェア。
- 30. 請求項14の方法で作成されたマイクロフェア。
- 31. 請求項25の方法で作成されたマイクロフェア。

【発明の詳細な説明】

発明の名称 連続ミクロスフェア製法

発明の背景

多くの天然及び合成ポリマー及び樹脂によって形成されるマイクロカプセル及びミクロスフェアは薬剤、診断薬及びそれらの類似物のような多くの活性剤の一般的な輸送媒体になってきている。分解可能なマイクロカプセル及びミクロスフェアは、持続時間を越えた活性剤の輸送が求められる、いわゆる「貯蔵 (depot)」処方での使用において、特に要望されている。マイクロカプセル及びミクロスフェアの使用数が増加しているにもかかわらず、最も要望される特性を持った産物を同時に供給しながら、現存の方法に付随して起こる、最も重大な物とお金の浪費を避ける、それらの製造に対する経済的かつ信頼性のある方法に対する必要性が存在している。

ミクロスフェアの調整方法は、概して連続相中の少なくとも1つの分散相の形成を含んでいる。分散相は概して活性剤及びポリマーを含んでおり、凝固することによりミクロスフェアになる。マイクロカプセルは同様に多重相 (multiple phase) を使用して形成される。典型的な例では、水-油-水 (w/o/w) エマルジョンが形成され、ポリマーの凝固からすぐに、カプセル壁の形成する分散相の表面上の一相を使つての沈殿をポリマーが引き起こす。

現行の製法に付随するひとつの難点は薬剤の取り込み、少

量の残留溶媒および規模拡大能力の要望されるすべての特性を示す小さな粒子の効果的な製造ができないことである。ミクロスフェアが皮下、筋肉内、又は静脈内輸送での使用を意図する場合には、小さな粒子であることが要求される。しかしながら、小さな粒子を獲得するためには、概して高い界面活性剤濃度、及び／又は粘性の連続相、及び／又は低粘度分散相が要求される。このことは粘度を調節をすること及び小さな粒子に対して必要とされるエネルギーの投入を増加させ、それによりさらに製法を複雑にしうる。その上、高い薬剤充填量を獲得するために高粘度分散相を使用することがしばしば要求される。しかしながら、高粘度分散相を持つ小さな粒子を獲得することは、非常に困難である。その上、要望さ

れる粒度を獲得するために必要とされる攪拌は、特に界面活性剤濃度を増加、又は低粘度の連続相を使用した場合には、頻繁に過剰な発泡を生じる結果となる。このことは、システムの冷却が粘度を増加させ、小滴の安定化を助け、発泡を減少させる一方で、DPの粘度は、例えば典型的な水性連続相に比較して劇的に増加することから、多くのシステムで未解決の問題となっている。このことは、小さな小滴を獲得することをさらに困難なものとしている。なおさらに、薬剤の濃度が分散相溶液の溶解度の境界に近い場合には、薬剤がシステムから結晶化することがあり、それが薬剤取り込み量の低さと放出プロフィールにおける破裂の問題の結果となる。

多くの場合で、発泡が要望する粒度を獲得することを不可

能にする。別の場合では、分散相小滴が混合帯から離れ、結果として大きな粒子となり、許容されない粒度分布となる。さらに、別の場合では、適した粒度が達成できるが、その製法では商業的には実施が困難な不十分な薬剤充填量がものとなる。

現存の製法は規模拡大について別の問題に出会う。粒度、薬剤充填量、放出プロフィール及びその類似物のような要望される特性を持つ、1バッチのミクロスフェアまたはマイクロカプセルを獲得したとしても、その後の商業的製造のために工程を規模拡大する必要がある。商業的製造に規模拡大することは、概して様々なパラメーターがそれぞれ連続的に規模拡大する変化を伴った、いくつかの連続する巨大化した製造工程を含んでいる。初期工程の特徴を持つ商業的規模のバッチを最終的に獲得するためには、非常に多くの実験が必要である。今日において特に珍しいいくつかの薬剤が1グラムに1000ドル以上の費用がかかる場合は、それぞれを拡大した規模で連続的に実験するには非常に高価なものとなる。同様に、このような工程の拡大に関連した時間及び資本の消費は、当事者を明らかに競争上の不利な状況におく。

連続法による、良好な薬剤充填を伴う小さな粒度を効果的に製造することができる製法への必要性が存在する。この製法は、非常に多くの活性剤及びポリマーに容易に適応できなければならず、商業的製造まで経済的かつ効果的に規模拡

大でき、及び与えられた製造工程を通じて均質な産物が製造

されなければならない。

発明の開示

本発明はポリマー物質、より詳細にはミクロスフェアを含有する活性剤の製造のための連続製法を示している。発明の製法に従って製造されたミクロスフェアは、薬剤、診断薬、又は多くの他の活性剤の運搬に理想的なものである。この発明の製法は連続的であるだけでなく、試験的なバッチから生産サイクルを通じて均一の特性を保有し続ける産物の製造を維持し続ける最大限の製造に規模拡大する上で、簡易で、経済的及び効果的な方法である。規模拡大のためには連続的な巨大バッチは必要としない。小さな規模で要望される処方が決定されれば、いかなる要望するバッチ規模を獲得するためには、その工程を長時間行うだけで良い。有利なことには、工程を通じて製造されるミクロスフェアは非常に均一的である。

さらに、発泡は発明の製法の実施例において、連続相の粘度を増加させることをせずに、最小にされるか、または完全に除去された。高い薬剤充填量と低い残留溶媒濃度を持つ小さな粒度は粘性分散相を使用することが必要とされる場合においても、この発明の製法により容易に獲得できる。もしこれが不可能ならば、現行の製法を使用しての高い粘度の分散相を持つ有効な小さな粒子の獲得は非常に困難である。この発明の製法は、非常に多くの輸送方法において、この発明のミクロスフェアの使用を可能とする、大きさ、危機回避充填

能力 (without jeopardizing loading efficiency)、収率、または均一性のような多くのパラメーターの調節での非常に大きな融通性を提供する。例えば、好ましい実施態様のひとつの利点は、混合強度が分散及び連続相の一方又は両方の流速を独立して調節することができ、有意な融通性を提供することである。

従って、活性剤とポリマーを含む分散相の形成；将来エマルジョンを形成する連続相の前記分散相への供給；分散相供給速度での反応容器への分散相の注入、及び連続供給速度での反応容器への連続相の連続的注入、エマルジョン形成のた

め手段を含む前記反応容器、及び前記連続相中での分散相のエマルジョンの形成；及び最後に前記反応容器から溶媒を取り除くための溶媒除去容器への連続的運搬を含んだ、活性剤作成のための連続方法を提供することが発明のひとつの態様である。

本発明のひとつの態様では、分散相は前記反応容器に約4ml/min～約400ml/minの速度で供給され、前記連続相は前記反応容器に約1000ml/min～約20,000ml/minの速度で供給される。好ましい実施態様では、分散相は親水性ペプチド活性剤及びラクチドとグリコリド (glycolide) のコポリマーを含み、工程には分散及び連続相を平均粒度を約5 μ m～約40 μ mとなるように提供するために効果的方法の乳化が含まれ、さらに活性剤充填量は少なくとも約9%である。さらに好ましくは、平均粒度が約5 μ m～約40 μ mの間、及び活性剤充填量

は少なくとも約15%である。

ある実施態様では連続相及び分散相は反応器に約5：1～500：1までの比率で供給される。より好ましくは、連続相及び分散相は反応器中に約40：1～200：1まで、さらに好ましくは約80：1で供給される。好ましくは、この方法には、約10秒以内に前記分散相ポリマーの凝固を引き起こすことに適応した、前記分散及び連続相の乳化が含まれる。さらに好ましくは、凝固が5秒以内に起こる。この発明のひとつの態様は、エマルジョン形成のための手段が約10秒以内に分散相ポリマーの凝固を引き起こすのに効果的な混合帯を形成し、前記分散相は、前記反応器中に前記混合帯として供給される。

この方法の好ましい態様は、エマルジョン形成のための手段にインペラーを含むことである。ある実施態様では、この方法に前記インペラーを毎分約5,000回転以上で作動させることによる前記エマルジョンの形成が含まれる。別の実施態様では、インペラーは毎分約6,000～約10,000回転で作動する。前記インペラーの直径が、前記インペラーから軸方向に伸びた円柱形の帯の直径を定義し、前記分散相は前記の軸方向に延長された帯に供給された。

ある実施態様では、分散相は均質溶液である。別の実施態様では、分散相はエマルジョンである。好ましい実施態様では、前記分散相の前記反応器中の滞留時

間は約5秒未満である。

この方法の工程がミクロスフェアの要望される集団の生産に十分な期間実行され、そこにおいて、前記期間の初期に製造されたミクロスフェアが、期間の終期に製造されたミクロスフェアと実質上同じ大きさ及び同じ活性剤充填量であることが、本発明の別の態様である。

ポリマー物質を含んだ活性剤の製造を要望される平均粒度及び活性剤充填量を持つ第1の集団から、第2の実質的に同じ大きさ及び同じ活性剤充填量を持つより大きな集団に規模拡大する方法の提供が、本発明の別の態様である。この実施態様は、前記活性剤及びポリマーを連続相及び分散相の反応容器への注入、及び前記容器中での前記分散相のエマルジョンを形成するための前記相の混合；前記反応容器から溶媒除去容器へのエマルジョンの連続的運搬及びそこにおける前記エマルジョンからの溶媒の除去；及びそれ以降のポリマー物質を含んだ活性剤の要望される第2のより大きな集団を製造するために行う、第1の2つの工程を連続的な実行に適した持続時間の選択、及び前記第2集団の獲得のために十分な期間での第1の2つの工程の連続的实施が含まれる。

この実施態様の好ましい態様においては、前記第1集団における平均粒度及び薬剤充填量が第1の2つの工程の実施、前記要望平均粒度及び薬剤充填量を獲得するための前記反応容器への前記分散相の供給速度、前記連続相の供給速度、及び前記連続及び分散相の混合の強度から選択された少なくとも1つのパラメーターの調節により獲得される。

ここにおいて開示される方法により製造されるミクロスフェアの提供が本発明の更に別の態様である。

本発明の多くの追加される特徴、利点及び完全な内容は以下に記載された詳細な説明及び図面により理解されるであろう。

図面の簡単な説明

図1は、本発明を実施するために使用される装置の様式化した設計図である。

図2は、本発明に従った好ましい反応容器の部分を様式化した設計図である。

発明の詳細な説明

本発明の好ましい製法では、分散相はポリマー及び活性剤を含んでいる。この技術分野の通常の知識を有する人にとっては、本開示故に、活性剤がカプセルに包まれた、又は要望されるポリマー物質中に散在した、いかなる活性剤にもなることができるということは明白になるであろう。好ましくは活性化剤とは薬剤又は診断薬であり、ミクロスフェアはそれらについて必要とされている患者に対して、これらの薬剤又は診断薬の輸送を意図される。好ましい薬剤は、ペプチド薬剤、タンパク質薬剤、ステロイド薬剤、非ステロイド薬剤、単純な化合物などであっても良い。適する薬剤及び活性剤のリストは、ここにおいてすべて参考文献として取り入れられた米国特許No. 5,407,609、4,767,628、3,773,919及び3,755,558に示させている。特に重要であるのは、ロイプロリド

(leuprolide)、トリプトレリン (triptorelin)、ゴセレリン (goserelin)、ナファレリン (nafarelin)、ヒストレリン (historelin) 及びブセレリン (busarelin) のようなLH-RHアゴニスト、LH-RH拮抗剤、オクトレオチド (octreotide) のようなソマトスタチンアナログ、ヒト、サケ及びウナギカルトシン、成長ホルモン、成長ホルモン放出ペプチド、副甲状腺ホルモン及び関係ペプチド、インターフェロン、エリスロポエチン、GM-CSF、G-CSF、キモシン、アンチトリプシン、エンテロスタチン (enterostatin)、及び局部投薬用化学療法剤、抗生物質及び鎮痛剤である。本発明で使用される特に好ましい薬剤はロイプロライドである。

分散相の取り込みのために、溶媒に活性剤を溶解させることが通常必要とされる。活性剤に対する溶媒は、活性剤の性質次第で当然変更される。活性剤を溶解させるために分散相に使用することができる典型的な溶媒には、水、メタノール、エタノール、ジメチルスルホキシド (DMSO)、ジエチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ジオキサン、テトラヒドロフラン (THF)、塩化メチレン、塩化エチレン、四塩化炭素、クロロホルム、ジエチルエーテル及びジメチルエーテルのような低級アルキルエーテル、ヘキサン、シクロヘキサン、ベンゼン、アセトン、酢酸エチル、及び類似物が含まれる。与えられたシステムに対する

適した溶媒の選択は、本開示故に、この技術分野の知識の範囲内で行われる。

本発明で有効なポリマーもまた、変更することができる。

この技術分野の通常の知識を持つ人に知られており、かつ、本発明で有効なポリマーの例はここにおいて参考文献として取り入れられた米国特許No. 4,818,542、4,767,628、3,773,919、3,755,558及び5,407,609に見い出すことができる。与えられたシステムに対して特定の要望されるポリマーの選択においては、生分解能（例えば、放出プロフィール）及び生体適合性のような、要望される臨床上的特性を持つ産物を製造する目的で、多数の要因を考慮し得る。この技術分野の通常の知識を持つ人が要望される臨床上的特性を持つポリマーの群を一旦選択すれば、その後ポリマーは製造工程を最大限にする要望される特性を持つようにする数値を決めることができる。例えば、いくつかの例において、ミクロスフェアの製造工程を促進し、薬剤の充填を促進し、分散相からの溶媒の除去の促進又は分散相から連続層への薬剤の移動の阻害するような活性剤と相互作用するようなポリマーを選択することが可能である。

好ましいポリマー選択の上で考慮されるべき問題は、ポリマーの親水性／疎水性の問題である。ポリマー及び活性剤の両方は疎水性であっても親水性であってもよい。可能であれば、親水性の活性剤と使用するためには親水性ポリマーを、疎水性の活性剤と使用するためには疎水性ポリマーを使用することが望ましい。好ましいLH-RHミクロスフェアでは、薬剤と親水性カルボキシル基の間のイオンによる相互作用は

薬剤充填量を高めると考えられている。しかしながら、一般的には、親水性薬剤は水に可溶性であるので、もし、ポリマーと薬剤の間に親和性が無く、又は凝固十分な速さで起きない場合は、薬剤充填量は減少する。疎水性ポリマーにおいて親水性薬剤を使用することもまた可能である。

特定のポリマーを選択する場合、システムでの残留溶媒への親水性／疎水性ポリマーの影響も考慮すべきである。親水性ポリマーは親水性ペプチドのような親水性薬剤と使用した場合、残留溶媒を僅かしか生じさせないことが期待できる。

好ましいロイプロリド・ミクロスフェアの場合には、薬剤が分散相小滴から迅速かつ効果的に疎水性溶媒の除去を助ける傾向を持っている。加えて、より多くの薬剤充填によって相対的に低い残留溶媒濃度を示す傾向があることが観察されている。したがって、あるシステムでは、親水性ポリマーに親水性薬剤を組み入れる場合、残留溶媒が僅かですむという間接的な利益がある。しかしながら、親水性以外にも残留溶媒に対しては様々な影響要因が存在するので、この効果が一律に非ペプチド薬剤に適用されるわけではない。それにもかかわらず、分散相小滴から溶媒の除去を促進する活性剤が、薬剤損失を付随させることなく、すぐれた産物を生じさせることは注目すべきである。

別の考慮事項はポリマーの分子量である。一方でポリマーの分子量は放出速度、放出プロファイル及びその類似のような産物の特性に強い効果を与えるが、それはミクロスフェア

の製造工程にも強い効果を与える。高分子量のポリマーは概してより粘度の高い分散相に関連し、結果的により大きな粒子になるか、小さな粒子を獲得する困難さを増加させ、ある例では残留溶媒を増加させる結果となる。対照的に、低分子量のポリマーはより高く可溶する傾向を持つため、概してより緩やかな凝固に関連する。好ましいシステムでは、高分子量ポリマーを使用した結果、高い残留溶媒量、高い薬剤充填量及び組み込み効率の促進が見い出された。本発明の製法の一つの利点は、低分子量ポリマー、及びそれによる粘性分散相を持つ、良好で、小さく、残留溶媒量のミクロスフェアを作り出す能力にある。当然ながら、特定の選択もまた要望する産物の特性に依存する。例えば、分子量が高ければ高い程、体内での分解時間は長くなり、薬剤放出の持続時間も長くなる。

またさらに、特定のポリマーの濃度を採用すると、産物の形態的見地からだけでなく、工程的見地からもシステムに影響を与えることができる。粘性分散相が凝固に関して溶媒の除去をほとんど必要としないので、ポリマー濃度の増加は高い薬剤充填量と関連する傾向を持つ。凝固速度の増加は、より高い薬剤保持の原因となる傾向がある。その上、粘性分散相は、凝固の間、連続相中への薬剤の拡散をより少なくするように導く。好ましい実施態様では、分散相でのポリマー

の濃度は約5～約40%、より好ましくは約8～約30%である。

特に好ましいポリマーは、乳酸のホモポリマー又は乳酸及

びグリコール酸のコポリマー、すなわちポリ（ラクチドー共－グリコリド）又は“PLGA”ポリマーである。乳酸残基とグリコール酸残基の比率は変化させることができ、10%グリコリドで使用することもできるが、高いラクチド濃度は結果的に低い粘度と高い溶解度を持つようになるため、一般的には乳酸残基：グリコール酸残基は25：75～75：25の範囲である。好ましいコポリマーは50：50～75：25ポリマーのような、少なくとも約50%の乳酸残基を持つ。ポリ（ラクチドー共－グリコリド）は多くの会社から購入することができ、また通常の合成方法により容易に調製できる。ベーリンガーインゲルハイム（Boeringer Ingelheim）はRG502, RG502H, RG503, RG503H, RG752, RG756及びその他の名称の適したポリマーを生産している。好ましいLH－RHミクロスフェアでは、RG502H及びRG503Hが分散相中でそれぞれ23%と13%の濃度で使用される。このようなコポリマーは、例えば、上記で参考文献として組み入れられた米国特許No. 3,773,919に記載されているように、ラクチドとグリコリドと呼ばれる乳酸とグリコール酸の2量体の重合によっても作ることができる。与えられたシステムに適したポリマーの選択は、本開示故に、この技術分野の通常の知識内で行えるであろう。

ポリマーに対する溶媒はまた、ポリマーの性質、活性剤、毒性、他の溶媒との適合性、及びどのミクロスフェアに入れられて使用されるかさえも含んだ多くの要因にも非常に依存

している。したがって、ポリマーの溶解に加えて、溶媒は小滴を形成するために連続層と混合されず、最高の蒸発効率で高い揮発性を示さなければならず、安全性の理由から不燃性であることが望まれる。好ましいポリ（乳酸）又はポリ（ラクチドー共－グリコリド）ポリマーに適した溶媒には、塩化メチレン、クロロホルム、酢酸エチル、置換ピロリドン及び類似物が含まれる。ある場合には、活性剤に対する溶媒は、ポリマーに対する溶媒と同一のものとなるであろう。ある薬

剤、典型的なものとしては映像分析で使用される放射性無機塩のような診断薬は、有機溶媒に不溶性又はごく僅かにしか溶解しない。これらの場合には、微細なサブサブミクロン (sub-sub micron) の大きさの粉末をミクロスフェア形成のためにポリマー溶液に直接懸濁させる。このことは薬剤輸送においてはまれなことであったとしても、診断薬に対しては有効であることは証明されるであろう。本発明の製法に対して有効な他の溶媒の選択は、本開示故に、この技術分野の通常の知識内で行えるであろう。

ポリマー、活性剤及び1つの又は複数の溶媒は分散相を形成するために結合される。好ましい実施態様では、分散相は、溶液を形成するためにポリマー、溶媒及び活性剤を共に混合することによって調製することができる、真性の均質溶液である。代わりに、それぞれが別の溶媒中にある、ポリマー及び活性剤の分離した溶液を調製することもでき、このときは引き続いて分散相を形成するために混合することができる。

ある場合には、活性剤及び／又はポリマーの性質のために、分散相はエマルジョンとして形成されなければならない。例えば、与えられたタンパク性薬剤が適した活性剤溶媒に溶解された場合、その結果生じた溶液は特定のポリマー溶媒におけるポリマー溶液には完全に不溶性となる。薬剤とポリマーが相対的に一定して散在するような相対的に均一な分散相を提供するために、薬剤及び薬剤溶媒は、分散相エマルジョンを形成するためにポリマー及びポリマー溶媒と乳化することができる。分散相を連続層に注入することにより、w/o/wエマルジョンが形成される。さらに別のシステムでは、分散相はポリマー溶液中の活性剤の直接の懸濁液として調製される。

以下に記載の本発明の製法に従って、これまで記載された分散相は連続相中で分散相の小滴又は含有物を形成するために、連続相中で分散又は乳化される。ここで使用される乳化又は分散という用語は、連続相中に散在した分散相の不連続領域という最も広い意味を意図する。記載された含有物は概して、一般的な球形の小滴として発生するが、ある場合には、特異な乳化条件のために不規則な含有物となる。分散相が小滴又は含有物を形成するのに適したいかなる媒体も、特に

要望される分散相溶媒に対する最高の排水槽を提供するものと共に、連続相として使用が可能である。頻繁に、連続相は修飾又は影響を及ぼす界面活性剤、安定剤、塩又は他の添加物を含むこともある。典型的な界面活性剤にはドデシル硫酸ナ

トリウム、スルホコハク酸ジクルチルナトリウム、スパン、ポリソルベート80、トウイーン80、プルロニック及びその類似物が含まれる。特定の安定剤には、タルク、PVA及びコロイド状水酸化マグネシウムが含まれる。粘性促進剤には、ポリアクリルアミド、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、メチルセルロース及びそれらの類似物が含まれる。緩衝液塩は薬剤安定剤として使用することができ、食塩さえも活性剤の連続相への移行を阻止するため補助として使用することができる。連続相の塩飽和に関するひとつの問題は、PVA及び他の安定剤が連続相から固体として沈殿する傾向を持つことである。このような場合には、特別な安定剤を使用した方がよい。塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム及びその類似物のような適する塩類、及び他の添加物は、本開示に基づき、この技術分野の通常の知識を持つ人にとっては明白なものとなるであろう。

好ましい実施態様では、連続相は水である。水性連続相は概して安定剤が含まれる。好ましい安定剤は総量が約0.1%～約5.0%のポリビニルアルコール（PVA）である。さらに、好ましくは、PVAが総量で約0.35%存在する。連続相での使用に適した他の安定剤は、本開示に基づき、この技術分野の通常の知識を持つ人にとっては明白なものとなるであろう。

例えば、ゆっくりとした凝固システム又は小さな粒子が要望されるシステムにおいては、粘性連続相及び高濃度の安定

剤が要望されるミクロスフェアを獲得するために必要とされる。同様に、必要ならば、ポリマーの冷却による分子量の増加又はポリマー濃度の増加により分散相をより粘性の高いものにすることができる。もちろん、さらなる連続相の粘度の調節は製法を複雑にし、高い粘度を持つ分散相の使用は小さな粒子を獲得することを困難にする。さらに、製法と装置の両方の複雑さに加えて、粘性相の冷却は

その点で、高い残留溶媒含有量及び／又は長期の溶媒除去時間を導くことがある分散相の溶解度を減少させる傾向を持つ。薬剤の結晶化もまた冷却での問題となり得る。発明の好ましい実施態様の利点は発泡が有意な障害とならないことから、小さな粒度を獲得するために相の粘度に対する冷却又は他の調節を必要としないことである。本製法は粘性分散相の使用が必要とされる場合でも、発泡を防止するための連続相の粘度の調節を必要とせずに、小さな粒度を獲得することを可能にした。このことは、製法を簡易にし、費用を削減する。

製法を実施する上で、一旦分散相及び連続相を用意すれば、それらは、以下に記載のように連続相で小滴又は含有物を形成するために分散相が散在又は乳化する所である反応容器に供給される。

図1を参照すると、工程は連続相保存容器12から、適切な開始容積分の連続相で反応容器10に呼び水するところから開始される。例えば、90mLの反応容器10の場合、開始容積は約70mLの水準である。当然のこととして、実際の開始又は呼び

水容積は反応容器の大きさと形状、収穫ライン20の配置、及び、閉鎖系反応容器の場合には、発泡を制御するために必要な上部空間の最小量に依存して変化する。この技術分野で通常の知識を有する人は、いかなる与えられたシステムに対しても適する呼び水容積を経験的に選択することができる。

反応容器10は開放系でも閉鎖系であってもよいが、好ましくは閉鎖系がよい。流動体は混合機のポンプ作用によって閉鎖システム中を都合よく移動する。加えて、閉鎖系の反応容器はまた、発泡の問題に対する潜在力を減少させる。好ましい容器10については、シルバーソン・マシーン・インク (Silverson Machines Inc.) から L 4 R / L 4 R T 用直列混合機組立品との名称のものを購入できる。本発明の製法の有利な特徴を実行するために、記載された装置を、以下により詳細に記載されるように、分散相に対する第2の注入口を付け加える変更を行った。注入管は装置に元からある注入管の直径の約 1/5 から 1/10 の直径である。管の先端は、攪拌機の頭部の約 1/4 インチ下に位置する。

反応容器10に一旦呼び水を行えば、連続相は連続相供給ライン16を經由して反応容器10に汲み上げ又は汲み出され、同時に分散相は分散相保存容器13から分散

相供給ライン18を経由して反応容器10に汲み上げ又は汲み出される。開放系反応器の場合は連続相エマルジョンは収穫ライン20を通じて反応容器10から溶媒蒸発槽22へ連続的に汲み上げ又は汲み出される。好ましい、反応容器10では、形成された又は形成中のミ

クロスフェアは、混合機的作用により容器10から次の工程のために汲み上げられる。小さな試験的な規模では、分散相は、例えば反応容器へ供給するために圧力を掛けたら125mLの小さな添加じょうごに蓄えられる。連続相は大きな保存容器に保持されるが、大規模での製造では、両方の相（流動体）は標準的なステンレス鋼の圧力タンクに保存することができる。その後、連続相添加ラインの測定バルブは圧力をかけられたタンクからの連続相の流れを制御できる。代わりに、小規模の装置の場合は、目盛を付けたペリスタポンプを使用して、圧力を掛けていない容器から反応器へ汲み上げることができる。例えば圧力を掛けたガラス又はステンレス鋼容器のようなものからの分散相の流速は前検定マイクロメーターニードル弁を使用して、画一的に制御できる。大規模の生産では無圧力タンクから無バルブ測定ポンプ分配器を使用してもよい。

発明の製法の2つの重要な態様には、分散相及び連続相の容器10への注入が含まれる。第1には、凝固速度、活性剤充填量、及び最終産物の多孔度に影響を与える連続相に対する分散相の比率は、供給ライン16及び18を経由して容器10への分散及び連続相の流入速度の調節により有利かつ容易に調節することができる。第2には、小滴の大きさ、凝固速度、及び溶媒除去の効率は反応器10での乳化装置に対してどの相対的位置に注入されるかにも影響される。本発明のそれぞれこれらの態様は以下にさらに詳細に議論する。

第1に、記載されたように連続相に対する分散相の比率は、

凝固速度、薬剤充填量、及び重要なミクロスフェアの残留溶媒の量に影響を与える。最小限として、分散相溶媒のシンクを作り出すために、分散相溶媒に対して十分な連続相がなければならない。したがって、最小限度では、連続相の総量は連続相における分散相溶媒の溶解度の限界よりも大きくなくてはならない。連続

相に対する分散相の最大の比率は、使用する装置の物理的大きさ、上部空間の要望される総量、蒸発タンクの大きさ及びその類似物により制限される。連続相の総量の増加により、一般的には分散相溶媒に対するより大きなシンクを作ることができる。加えて、エア・スweep又は連続相の表面上からエア／蒸気を置換又は除去する他の手段と共に頭部空間量の増加は連続相のシンク性質を促進することもできる。

最大と最小の要望される連続相の総量の間で、本発明の製法は同時に連続的なやり方で製法を実施できる間での制御及び調節における非常に大きな融通性を与える。有利なことに、本発明の連続製法においては、連続相に対する分散相の比率は反応容器へのそれぞれの供給速度を制御することで容易に制御される。このことは、タービン、パドルホイール、ギアタイプ、ポジティブ置換又は磁気流量計、若しくは無バブル計量ポンプ又はこの技術分野の通常の知識を持つ人には明白な同様な装置のような市販されている流量調節器の使用により順次容易に及び正確に達成される。この発明の独自の利益は、連続相に対する分散相の比率が、与えられた製造工程

の全期間を通じて画一的なミクロスフェアを一貫して製造できるようにする、全工程を通じての一定性の維持が可能なことである。

分散相に対する連続相の実際の比率は要望の産物、ポリマー、薬剤、溶媒、その他に依存して変わるが、この技術分野の通常の知識を持つ人には経験的に決定することができるであろう。好ましい実施態様では、連続相：分散相は典型的に約5：1～500：1の範囲に入り、より好ましくは、約40：1～200：1である。好ましいLH-RHシステムでは、最良の比率は約80：1である。この値を分散相の流速に当てはめると、連続相の流速を2000mL/minに固定の場合、約1000mL/min～約5mL/min、より好ましくは約40mL/min～約12mL/min、さらに好ましくは約25mL/minである。もし連続相の流速が増加すれば、分散相の流速はそれに対応して変化する。生産の規模では連続相の流速は工程時間を少なくするために20,000 mL/minと同じ程度が良い。好ましいLH-RHミクロスフェアの製造工程では、連続相の流速は約2000mL/minの水準、及び分散相の流速は約25mL/minの水準であ

る。

図1で示されるように、連続相供給ライン16は、使用される有意に大きい連続相の容積を収容するために分散相供給ライン18よりも実質上大きい。分散及び連続相の流速は、ポンプ又は上記記載のような目盛を付けたペリスタポンプ及び計量ニードル弁のような調節装置により制御することができる。示されるように、CD及びDPはポンプ24により反応容器10

に汲み上げられる。代わりに、それらは真空又は混合機のポンプ作用により汲み出す事ができ、それらの流速は様々な流量調節器により制御される。同様に、開放反応器システムの場合は、連続相エマルジョン反応器10から溶媒蒸発タンク22へポンプにより、又は閉鎖システムの場合はインペラーのポンプ作用によって汲み上げられる。作業台規模での装置の場合、連続相ポンプ24は簡単なペリスタポンプとすることができる。しかしながら、分散相の上部の圧力源のため分散相を容器10に輸送することにペリスタポンプを使用することは困難である。当然、この問題はほとんど揮発しない溶媒を使用した場合には、軽減又は消滅する。反応容器10でエマルジョンを形成した後、連続相エマルジョンは容易に反応容器10から溶媒蒸発タンク22へ容易に汲み上げ又は汲み出される。もちろん、使用される特異的な装置に依存して、連続相及び分散相供給ライン16, 18におけるポンプ及び最低限の流量調節器を使用する必要がある。適するポンプ、流量調節器及び類似物の選択は、本開示故に、この技術分野の知識の範囲内で十分に行うことができるであろう。

上記記載のように、連続相及び分散相供給ライン16, 18の配置は、反応容器が開放系か閉鎖系かにかかわらず、非常に重要なものとなりうる。特に、分散相が容器10の要望される特性を持つミクロスフェア形成のための最高の場所に入るようにするものが望まれる。

理論的に結合が期待できないときには、本発明の利点は例

外的に高い強度の乳化の使用に由来すると考えられている。高い剪断力又は高い渦動力の下で、分散及び連続相の機械的な混合により分散相からの溶媒除去速度

は増加すると考えられる。恐らく、このことは混合強度の増加が分散相が単位時間あたりより多くの連続相と相互作用を及ぼすためである。分散相から連続相への溶媒除去速度の増加は、分散相の凝固の速度を増加させる傾向がある。使用するポリマー、溶媒、及び／又は連続相のために、分散相が本質的にゆっくりと凝固するこれらの例においてさえも、好ましい実施態様に関連した混合強度の増加によって誘導される剪断力又は渦動力の増加により、高い溶媒除去効果及びこれゆえの有利な増加凝固速度及び減少残留溶媒含有量を提供する。

本発明にしたがって高い強度での混合はまた、ミクロスフェアの大きさ及び活性剤充填量に対しても好影響を与えると考えられている。本発明の製法に関連した高い剪断力及び／又は高い渦動力のため、分散相はより小さな凝集体又は小滴になることを強制される。その上、高速の凝固は分散相からの薬剤の移動の防止を助け、分散相が順次より大きな小滴になるように凝集する能力を阻害する。このようにして、有利に高い薬剤充填量を持つ非常に小さなミクロスフェアの獲得が可能である。薬剤、CPに対する添加剤又は類似物の性質、若しくは薬剤がポリマー又は類似物に対して親和力高めたためのような、薬剤が連続相に対してほとんど親和力を持たないものと仮定すれば、発明の高い強度の乳化と関連した敏速

な凝固は、非常に高い薬剤充填量を持つ非常に小さなミクロスフェアの供給を可能にする。本発明と関連した混合強度及びミクロスフェアの大きさは、重大な発泡の問題がなく又は発泡を埋め合わせするための手段の実行により製法を更に複雑化することなく、達成される。さらに、より粘度の高い分散相の使用が必要又は要望される場合でさえも、小さなミクロスフェアを獲得することができる。

本発明に従って混合強度を高めることを要望される間、インペラーの刃とエマルサー (emulsor) 又は静翼スクリーンのような、2つの表面間の正確な剪断は逆に結果として生じるミクロスフェアに影響を与えることができる。例えば、分散相がインペラーとスクリーンの間隙のような強力な剪断帯に直接注入される場合は、ミクロスフェアは非常に急速に凝固し、好ましい球形というよりはむしろ、細長く及び奇形状にするような激しい剪断力に支配される可能性がある。それ故、供給ライン、特に分散相供給ラインの配置は製法に重大な影響を与えること

ができる。適正な配置での分散相の容器10への注入により、画一的な球形粒子及び敏速な凝固を確実なものとする。図2で示された実施態様では、分散相供給ライン18の先端は物理的に反応室に入っている必要は無い。示されるように、供給ラインは連続及び分散相が共に混合帯に入ることができるように径路19に引っ込めることができる。しかしながら、連続及び分散相は反応容器に入る時点のかなり以前には共存しないことが望まれる。

本発明に従えば、分散相は、分散相から連続相への高速度の溶媒除去を引き起こすために効果的な高剪断力及び高渦動力により特徴付けられる非常に強力な混合帯に、好ましくは、高速のポリマー凝固と一致して注入されるべきである。しかしながら、分散相はミクロスフェアの作り損ない又はミクロスフェアに逆効果を与える他の要因となるような高い剪断力中に注入すべきではない。最善の供給ラインの配置はこの技術分野の通常の知識を持つ人には経験的に決定することができ、使用する特定の装置に対応して明らかに変化するであろう。

好ましい実施態様では、高強度混合帯が分散相ポリマーが約20秒以内に、より好ましくは約10秒未満で、さらに好ましくは約5秒未満で凝固する所として定義される。好ましい、LH-RH実施態様においては、ミクロスフェアは約3秒未満で凝固する。適した場所への注入は、乳化インペラー、超音波処理チップ又は類似物と非常に近接して分散相投入ラインを配置することにより達成することができる。図1に示された、好ましい実施態様では、乳化装置はインペラー27及び静翼又はエマルサー・スクリーンに対応する28を含んでいる。インペラーは前記インペラーから軸方向に伸びた円柱帯及び、図1のZとして2次元で示してある、インペラーの回転に直交する平面の直径を定義する直径を持つ。この実施態様においては、分散相は好ましくZ帯の範囲内に注入される。より好ましくは、インペラーから約20mm以内の非常に接近したZ

帯の範囲内に注入される。さらに好ましくは、分散相はインペラーから約3~10mm下に注入される。好ましいシルバーソン装置の場合、インペラーの直径が32mmで、静翼スクリーンの直径は34mmである。したがって、この例では円柱帯の直径

が約32mmであり、そこにおける、最も強い剪断力はインペラーと静翼との間の2ミリメートルの間隙に位置する。

高渦動力乳化機はインペラー型装置、連続及び分散相を高い渦動流を引き起こす連続的な小さな径路に強制的に送りこむ流量制限器具、高頻度超音波処理チップ、又は本開示故に、この技術分野の通常の知識を持つ人に明白なものとなる類似装置であってもよい。非静止混合機の利点は装置への相の流入速度には無関係に混合強度を調節できることである。重要なことは本発明の製法に従って妥当な混合強度が供給されることである。好ましいインペラー型の装置の場合には、適切な乳化強度はインペラーを約5,000rpm以上で回転させることで獲得できる。好ましくは、インペラーは約6,000rpm～約10,000rpm、及び最も好ましくは約7,000rpmで回転される。インペラー型装置の場合、毎分回転数が適切な混合強度の有効な概算値となる。むろん、剪断力の規模、すなわち混合強度はインペラーとエマルサー・スクリーン又は静翼との間隙を調節することによっても増加させることができる。同様に、分散相で経験した強度は上記記載のように供給装置のふさわしい配置によってもまた調節することができる。本工程に適応する市販の装置には、シルバーソン製の直列混合機、ロス

(Ross) 混合機及び類似物が含まれる。好ましい実施態様の明らかな利点は、インペラーを5,000rpm以上で回転させることで誘導されるような高強度乳化作業が発泡の問題を発生させることなく使用できることである。

明らかに、活性剤、ポリマー、溶媒、連続相、それぞれの体積、及び他の様々な要因に依存して、あるシステムでは混合強度を実施的に増加させた場合にあっても、単に迅速な凝固が起こるわけではない。このようなシステムにおいては、例えば、規模拡大、発泡問題の排除、及び関連した十分な活性剤充填量、産物の均一性及びその他のものを備えた小さな粒子を獲得する能力などの発明の製法の最も重要な利点は、失われることは無い。

連続相及び分散相のエマルジョンが一旦形成されれば、エマルジョンは連続的に反応容器10から溶媒除去タンク22へ運搬される。ここで使用される、運搬される「エマルジョン」とは実際のエマルジョンであってもよいが、好ましい実施態

様では、より正確には連続相に懸濁した凝固分散相粒子の懸濁液である。凝固が特に早くはない場合、運搬されるべきエマルジョンは凝固の過程において分散相小滴の懸濁液で構成される。

開放系反応容器の場合、運搬には1つ以上のポンプによって行われる。好ましい閉鎖系反応容器の場合には、運搬はポンプとしての混合機それ自身の使用によって行われるか、又は溶媒蒸発タンクが真空を導くことができるので、真空によ

ってそれを行うことができる。特に生じたミクロスフェアが臨床用に使用することを意図されてる場合は、ミクロスフェアの調製において溶媒除去が重要になる。

興味深いことに、好ましいシステムにおいて、ミクロスフェアが実質的に瞬間的に凝固した場合であっても、形成されたミクロスフェアはそれにもかかわらず、連続相中に追加の残留溶媒を引き渡しやすいたことが観察される。それゆえ、ある形式の溶媒蒸発工程が、多くの臨床的応用のために必要である低濃度の残留溶媒含有量を獲得するために必要であると考えられている。

溶媒蒸発タンクにおいては、組成物は攪拌される。ガス体を制御できるいかなる容器でも十分に使用できる。概して、組成物は溶媒蒸発タンクで3～8時間攪拌され、好ましい実施態様では約4時間である。頭部空間はタンク容量の約1/3であることが好ましい。例えば空気の新たな空気、窒素、又は他の不活性ガスとの置換によるような、容器の頭部空間における空気の交換、最大の溶媒除去の非常に効果的な手段であることが証明された。好ましい実施態様では、流速は25リットルの頭部空間で約30 L/minである。この実施態様では、頭部空間の空気は約1分に1回交換される。本発明に係る使用に適した他の溶媒除去措置は、本開示故に、この技術分野の通常の知識を持つ人には明白なものとなるであろう。従って、連続相の増大した又は非常に多量の希釈、若しくは溶媒で飽和された連続相の新鮮な連続相への置換、真空又は

非真空エア・スweep及び類似物をミクロスフェアの形成後、溶媒除去タンクへ追加の溶媒を抽出することに使用できる。非常に多量の希釈は概して工業レベル

での製造には便利なものではない。しかしながら、温度感受性物質のようなある産物においては、有効であると言える。

理論的に結合が期待できない場合、活性剤がLH-RH及びポリマーが親水性、1-ポリ（ラクチド-共-グリコリド）である好ましい実施態様の場合、好ましくはエア・スweepを含む蒸発による溶媒除去は要望される規模の溶媒除去を獲得するために必要であると考えられる。

好ましいLH-RHミクロスフェアの場合、薬剤充填量は全固体成分に対して20.5%になること目標とする。実際には、薬剤充填量は15~19%の水準で獲得できる。もちろん、薬剤の性質、要望される放出プロフィール、ポリマーの性質、及び当然のことである、製法はすべて要望される及び正確な薬剤充填量に影響を与えることができる。典型的な例では、薬剤とポリマーの合わせた重量に対して5%~20%の水準になることを要望され、それはこの発明の製法により達成できる。

都合のよいことには、要望される充填量が一旦達成できれば、製造レベルのバッチを含む、より大きな規模のバッチへの規模拡大は工程を延長して実施するという簡単な事によって達成できる。追加の供給管、乳化機、インペラー及び類似物は、要望される特性を持つ、非常に多量のミクロスフェアを生産するためには必要としない。その上、本発明の連続的

製法の期間中に製造されるミクロスフェアは、製法の期間中いつ生産されるにかかわらず、大きさ、薬剤充填量及びその他に関して非常に均一的に生産される。

本発明のこれら、及びその他の態様は以下の非制限の実施例より、より詳しく理解される。

特別の記載のない場合、以下の装置が実施例で使用された。シルバーソン直列混合機は上記記載のように分散相用の注入管を付け加える変更を行い、シルバーソン攪拌機モデル4LRと連結した。放出管はアプリコン（Applikon）製の7リットルのジャケットを付けたバイオリアクターに連結した。そのアプリコン製品の上部平面部分の一つは真空ポンプに結合され、別のものはエア吸入用として乾

燥0.2 μ mフィルターに、別のものはシルバーソンから吸入管として、及び第4のものは収穫ラインとして使用した。

実施例1

これは、ポリ（ラクチド-共-グリコリド）及びロイプロリド（LH-RH）のミクロスフェアの調製のための典型的な工程である。

親水性ポリマーRG503Hはベーリンガーインゲルハイムから購入した、インヘレント粘度が0.42dL/gのポリ（ラクチド-共-グリコリド）の50:50のコポリマーである。このポリマーは30,000の水準の重量平均分子量（ M_w ）を持つ。このポリマーの溶液は36gのジクロロメタンに7.0グラムのRG503Hを溶解させることで調製した。薬剤溶液は8.56g

メタノールに1.00g酢酸ロイプロリドを溶解させることにより別々に調製した。分散相（DP）はロイプロリド溶液とポリマー溶液を混合することによる結合により調製された。このように形成されたDPは、明るい黄色で、比較的透明な溶液である。DPは次に124mL圧力付加じょうごに移され、テフロン針バルブを経てシルバーソン装置のDP注入部につながれた。頭部圧力が連続相上の付加じょうご（10psi）に加えられた。付加じょうごの停止コックはDP添加が開始されるまでは閉じられていた。

連続相（CP）は4000mLの水に14.0gのポリビニルアルコール（PVA）（冷水可溶性、MW30,000~70,000）に溶解させ、7リットルビーカーに調製された0.35%PVA溶液（w/v）であった。CPタンクからシルバーソン装置へのCP添加管には流量調節のためペリスタポンプを使用した。シルバーソン装置の放出管は、ジャケットした容器及び口を閉じた攪拌機部品を備えた7リットルアブリコン反応器である溶媒蒸発容器に繋がれた。

シルバーソン装置はCPによって呼び水がされ、小室に入った空気が抜き取りバルブを開放することで除去された。シルバーソンの攪拌機モーターを7000rpmで作動させ、CP及びDPは同時に反応器に注入された。CP及びDPの要求される流速はペリスタポンプ（CP用）及びニードル弁（DP用）を使用して達成され、一定に維持された。添加時間は2分間で、その間52.6gのDP及び4000mLの

CPが混合機により一

定の流速で注入された。

ミクロスフェアはシルバーソン装置で形成され、懸濁液として溶媒蒸発タンクに運搬された。頭部空間エアは真空ポンプを使用して絶えず置換された。頭部空間からのエアの流れは1分当たり約29標準リットルであった。蒸発タンクは25～42℃に上昇させて、3時間維持した。高い温度及びエアスイープはシステムがミクロスフェアのより低い残留溶媒を達成するのに助ける。

溶媒蒸発の後、システムの温度は25℃に低下させ、2000mL攪拌セル組立品（アミコン（Amicon）製M-2000）を使用して、5 μ mフィルター上での加圧濾過（5～20psi）によりミクロスフェアを収穫した。ミクロスフェアは2000mLのWFIで洗浄して、WFI（約0.3 g/mL）中に濃縮した懸濁液として大量に凍結乾燥した。もちろん、この工程は工業的生産に規模拡大するために変更できる。

この実施例に従って調製されたミクロスフェアは79%の薬剤取り込み効率を意味する9.88%の薬剤充填量を持つ。顕微鏡分析ではミクロスフェアは球形で、粒子は無孔性から部分孔性であることを示した。大きな粒子はいくつかの孔を示したが、小さな粒子は無孔性であった。ミクロスフェアのかさ密度は0.588 g/ccであった。粒度分布分析では粒子の50%が18 μ m（体積分布）で、粒子の80%が7～36 μ mの間にあることを示した。残留溶媒（塩化メチレン又はメタノール）は検出できなかった（すなわち、約20ppm未満）。

実施例 2

この実施例により示されるように、本発明に従った好ましい連続流製法の有意な利点は工程を行っている間の産物の一貫性である。以前の製法は工程の終期の産物が工程の前期及び中期の産物の特質と実質的に同一の特質をもつミクロスフェアを製造するのは不可能であった。このことは、商業的に重要な利点である。

25%過剰のDP及びCPを使用し、実施例1と同一のやり方でミクロスフェアを調製した。DPは8.75 g RG503H, 1.25 g 酢酸ロイプロリド、45 g 塩化メチレン及び10.7 g メタノールが含まれる。CPは5000mLの0.35% PVAである。

この実施例では、シルバーソン反応器で生産されるミクロスフェアの懸濁液は溶媒蒸発タンクに移動しない。代わりに、それぞれ1000mLのフラクション（それぞれのフラクションの採取時間は約24秒）が2000mLビーカーに集められた。このようにして、等量の5つのフラクションが集められた。それぞれのフラクションからのミクロスフェアは濾過により分離され、大規模に凍結乾燥し、及び比較された。

顕微鏡分析の結果、すべての5つのフラクションから得られたミクロスフェアの形態は同一であることが示された。大きな粒子には多少の孔が見られたが、一方、小さな粒子は無孔性であった。次の表1は工程を通じて生産されたミクロスフェアのそれぞれのフラクション（Frnx）は非常に一貫性があることが示される。

表 1

	<u>Frnx1</u>	<u>Frnx2</u>	<u>Frnx3</u>	<u>Frnx4</u>	<u>Frnx5</u>
充 填 量	11.17	11.31	10.96	11.05	10.99
大 き さ (μ m)					
10 % 以下	9.6	8.9	8.9	9.3	8.9
50 % 以下	18.1	17.4	17.8	17.8	17.4
90 % 以下	33.3	32.6	35.5	34.4	32.6
Blk Dens.	0.40	0.48	0.48	0.47	0.48

残留塩化メチレンの値は、ミクロスフェアでの溶媒蒸発を行わなかったために、すべての分画で非常に高い値（約8000ppm）であった。

実施例 3

この実施例では、疎水性ポリマーを使用した。ベーリンガーインゲルハイム R G 502はインヘレント粘度が0.2dl/gのPLGAの50:50のコポリマーである。DPの組成を除いては、実施例1と同様な手順で調製した。ここで、ポリマー溶液は20gのジクロロメタンに8.77gのRG502を溶解させることで調製した。薬剤溶液は4gメタノールに1.25gロイプロリドを溶解させることにより分離して

調製した。DPを形成するためにポリマー及び薬剤溶液を混合した。その後、5000mLのCPはDP及びCP添加時間がおおよそ同じ（2分）になるように設定した調節用マイクロメーターニードル弁により添加された。シルバーソーン攪拌、溶媒蒸発及びミクロス

フェア収穫はすべて実施例1と同様に実施された。

生じたミクロスフェアの薬剤の取り込み効率は65%で、ミクロスフェアの薬剤充填量は8.17%であった。顕微鏡分析では、ミクロスフェアは球状の形態及び多孔性であった。ミクロスフェアのかさ密度は0.23であった。粒度分布分析では粒子の50%が $25.6\mu\text{m}$ （体積分布）以下で、粒子の80%が $12.2\sim 44.0\mu\text{m}$ の間にあることを示した。ミクロスフェアの残留塩化メチレン及びメタノールは検出できなかった（20ppm未満）。

実施例 4

この実施例では、ポリ乳酸のホモポリマーを使用した。インヘレント粘度が 0.18dL/g のポリ乳酸（ベーリンガーインゲルハイム製RG202H）8.75gを20gのジクロロメタンに溶解させるた。薬剤溶液は4gメタノールに1.25gロイプロリドを溶解させることにより分離して調製した。均一で透明に溶液として現れるDPを形成するために、ポリマー及び薬剤溶液を混合した。ミクロスフェア5000mLの連続相を使用して収穫はすべて実施例1と同様に実施された。

生じたミクロスフェアの薬剤の取り込み効率は85%で、薬剤充填量は10.58%であった。顕微鏡分析では、ミクロスフェアは完全な球状の形態で、多くは無孔性であった僅かの大きな粒子は核の中心に孔の存在が示された。ミクロスフェアのかさ密度は 0.615g/mL であった。粒度分布分析では粒子の50%が $16.0\mu\text{m}$ （体積分布）以下で、粒子の80%が $5.8\sim 30.2$

μm の間にあることを示した。ミクロスフェアは79ppmの塩化メチレン及び非検出量の（10ppm未満）メタノールを含んでいた。

実施例 5

この実施例では、8.75g RG503H、1.25gロイプロリド、45g塩化メチレ

ン及び10.7 g メタノールをD P用に使用して、ミクロスフェアを実施例1と同様に調製した。0.35% P V A溶液の5000mLのC Pを使用しながら、攪拌速度を9000 rpmに上昇させた。ミクロスフェアの薬剤の取り込み効率は70.7%で、薬剤充填量は8.84%であった。顕微鏡分析では、ミクロスフェアはより小さく、球状の形態で、圧倒的に無孔性のものが多いことを示した。ミクロスフェアのかさ密度は0.510 g/mLであった。粒度分布分析では粒子の50%が15.5 μ m (体積分布) 以下で、粒子の80%が8.1~24.8 μ mの間にあることを示した。ミクロスフェアは47ppmの塩化メチレン及び非検出量の(10ppm未満) メタノールを含んでいた。

実施例 6

この実施例では、タンパク剤を含んだミクロスフェアを調製した。活性剤はヒト血清アルブミンタンパク質である。ミクロスフェアはR G 503H ポリマーを使用してw/o/wエマルジョンを形成させることにより調製した。調製手順は、分散相が45 g 塩化メチレン中に8.75 g ポリマーを含むポリマー溶液を調製することによって形成させる以外は、実施例1と同様である。5 mLの25% w/v ヒト血清アルブミン溶液をポ

リマー溶液に磁気攪拌機を使用して攪拌しながら、ゆっくりと加えられた。したがって、分散相は約5分間の強い攪拌の後に、乳白色の微細な懸濁液の形で獲得された。ミクロスフェアは、シルバーソン装置の攪拌速度6000rpmとする以外は実施例1と同様に調製した。ミクロスフェアは、実施例1と同様に収穫及び凍結乾燥された。

顕微鏡分析では、ミクロスフェアはより小さく、完全に球状の形態で、非常に多孔性のものが多いことを示した。ミクロスフェアのかさ密度は0.03 g/mLであった。粒度分布分析では粒子の50%が48.4 μ m (体積分布) 以下で、粒子の80%が23.0~69.7 μ mの間にあることを示した。ミクロスフェアは検出できるような残留塩化メチレンを含んでいない。

実施例 7

この実施例では、ミクロスフェアはR G 503H及び非ペプチド薬剤から調製された。ポリマー溶液は45 g ジクロロエチレンに8.74 g のR G 503Hを溶解させる

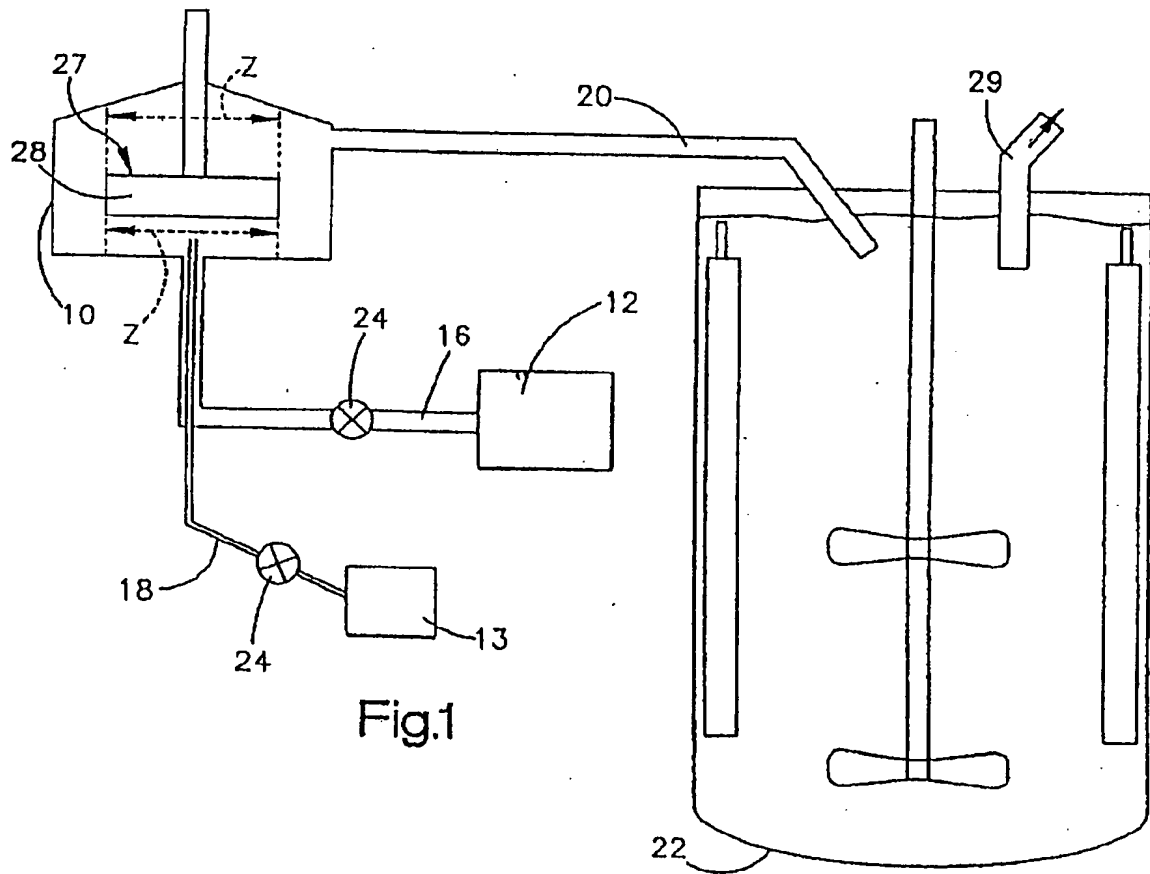
ことで調製した。1.25 g のジピリダモール (dipyridamole) をポリマー溶液及び 2.53 g メタノールにゆっくりと加え、明るい黄色を示す均質溶液を作成した。ミクロスフェアは、実施例 1 と同様に調製、収穫及び凍結乾燥された。

これらのミクロスフェアの88%の薬剤の取り込み効率及び11.0%の薬剤充填量を示した。顕微鏡分析では、ミクロスフェアは球形で、一般に小さく、圧倒的に無孔性のものが多いことを示した。ミクロスフェアのかさ密度は0.45g/mLであ

った。粒度分布分析では粒子の50%が $13.5\mu\text{m}$ (体積分布) 以下で、粒子の80%が $5.8\sim 20.0\mu\text{m}$ の間にあることを示した。ミクロスフェアは107ppmの塩化メチレン及び非検出量のメタノールを含んでいた。

本発明の多くの変更態様及び変化物は、前記の詳細な開示の見地から、この技術分野の知識を持つ人にとっては明白なものとなるであろう。その結果、加えられた請求項の範囲内で、本発明は特に示され及び記載された以外のことを実施することができる。

【図1】



【図2】

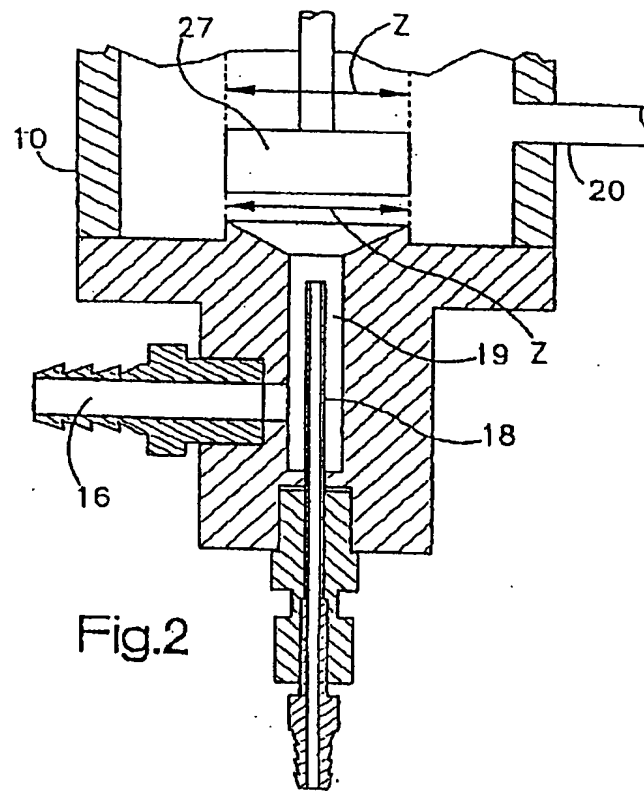


Fig.2

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US98/02874

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) :A61K 9/14

US CL :424/489

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 424/489

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,611,971 A (MAEDERA et al.) 18 March 1997, column 11, lines 20-40; column 2, lines 36-56; column 5, lines 29-33; column 6, lines 41-58; column 11, lines 43-55; column 13, lines 5, 33-34, 50-51.	1-31

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family	
---	--	--	--

Date of the actual completion of the international search

26 APRIL 1998

Date of mailing of the international search report

03 JUN 1998

Name and mailing address of the ISA/US
Commissioner of Patents and Trademarks
Box PCT
Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

WILLIAM E. BENSTON, JR.

Telephone No. (703) 308-1235

Form PCT/ISA/210 (second sheet)(July 1992)*